昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*，December 2003，46（6）：679－683 ISSN 0454-6296

麦长管蚜和禾谷缢管蚜对小麦挥发物的触角电位反应

刘　勇[1,2]，陈巨莲[2]，倪汉祥[2]
（1.山东农业大学博士后流动站，山东泰安　271018；2.中国农业科学院植物保护研究所，北京　100094）

摘要：采用活体蚜虫测定法，利用 EAG 技术比较分析了麦长管蚜 *Sitobion avenae* 和禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* 有翅及无翅成蚜对小麦挥发物及麦蚜取食诱导挥发物组分的嗅觉反应，揭示了两种麦蚜的嗅觉变异特点。结果表明：麦长管蚜对水杨酸甲酯、反-2-己烯醛、反-2-己烯醇、6-甲基-5-庚烯-2-酮和 6-甲基-5-庚烯-2-醇的反应较强，禾谷缢管蚜对水杨酸甲酯、反-3-己烯乙酸酯、6-甲基-5-庚烯-2-酮和 6-甲基-5-庚烯-2-醇的反应较强，并得到了剂量反应曲线。麦长管蚜的有翅和无翅成蚜对 6-甲基-5-庚烯-2-酮、反-2-己烯醇和水杨酸甲酯的反应差异显著；禾谷缢管蚜的有翅和无翅成蚜对反-2-己烯醇、辛醛、里那醇、水杨酸甲酯和反-3-己烯乙酸酯的 EAG 反应差异显著，其原因与禾谷缢管蚜迁移及转主为害的生物学特性有关。

关键词：麦长管蚜；禾谷缢管蚜；小麦挥发物；触角电位
中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296（2003）06-0679-05

Electroantennogram responses of *Sitobion avenae* and *Rhopalosiphum padi* to wheat plant volatiles

LIU Yong[1,2]，CHEN Ju-Lian[2]，NI Han-Xiang[2]（1.Postdoctoral Station，Shandong Agricultural University，Taian，Shandong　271018，China；2.Institute of Plant Protection of Chinese Academy of Agricultural Sciences，Beijing　100094，China）

Abstract：The electroantennogram（EAG）responses of alate and apterous adult aphids of *Sitobion avenae* and *Rhopalosiphum padi* to wheat plant volatiles and volatiles induced by aphid feeding were analysed. Variation of olfactory responses was also analysed. EAG responses of *S. avenae* to methyl salicylate，E-2-hexenal，E-2-hexenol，6-methyl-5-hepten-2-one，6-methyl-5-hepten-2-ol，and *R. padi* to methyl salicylate，E-3-hexenyl-acetate，6-methyl-5-hepten-2-one，6-methyl-5-hepten-2-ol were stronger. The EAG responses to 6-methyl-5-hepten-2-one，E-2-hexenol and methyl salicylate were significantly different between alate and apterous adult aphids of *S. avenae*. EAG reponses to E-2-hexenol，octanal，linalol，methyl salicylate，E-3-hexenyl-acetate were also different between alate and apterous adult aphids of *R. padi*.

Key words：*Sitobion avenae*；*Rhopalosiphum padi*；wheat plant volatiles；electroantennogram

蚜虫嗅觉是蚜虫化学生态学研究的重要内容。气味物质是由蚜虫触角上的原生和次生感觉圈所鉴别（Pickett *et al.*，1992）。但有研究提出植物气味只是由原生感觉圈所感受（Bromley and Anderson，1982；Yan and Visser，1982；van Giessen *et al.*，1994）。触角感受器对植物气味的整体反应可用触角电位（electroantennogram，EAG）技术来研究（Schneider，1957）。蚜虫对植物气味的 EAG 反应已在几种蚜虫中作了初步研究，如麦长管蚜 *Sitobion avenae*、麦无网长管蚜 *Metopolophium dirhodum*（Yan and Visser，1982；Visser and Yan，1995）、豆卫矛蚜 *Aphis fabae*（Hardie *et al.*，1994，1995）、巢菜修尾蚜 *Megoura viciae*（Visser and Piron，1995）、豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum*（van Giessen *et al.*，1994）、甘蓝蚜 *Brevicoryne brassicae* 和桃蚜 *Myzus persicae*（Visser *et al.*，1996），不同种类蚜虫对相同植物气味的 EAG 反应显著不同。

尽管 EAG 技术与气相色谱（GC）技术结合，

基金项目：“973”国家重点基础研究项目（GB20000126）；中国博士后科学基金项目
作者简介：刘勇，男，1968 年 10 月生，博士，副教授，从事昆虫化学生态学研究，E-mail：liuyong@sdau.edu.cn
收稿日期 Received：2003-02-13；接受日期 Accepted：2003-05-26

已在鉴定挥发物混合组分的生理活性中得到了广泛应用，GC与单细胞记录（SCR）结合用于研究昆虫化学感受器的生理功能以及神经受体细胞的电位变化也已被证明非常成功，但由于蚜虫离体触角的存活时间短以及EAG反应幅值小，各种研究技术的应用都受到了严格限制。Park和Hardie（1998）曾介绍了一种研究蚜虫触角电位的先进方法，本文作者采用该方法并加以改进，主要通过测定麦长管蚜和禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* 对小麦挥发物组分的EAG反应，明确两种不同种类蚜虫对同一寄主挥发物的嗅觉反应谱及其变异特点，为进一步揭示两种麦蚜的嗅觉反应特点及其变异机理、探讨信息化合物在麦蚜综合治理中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 蚜虫

选取黄淮海冬麦区危害较重的麦长管蚜和禾谷缢管蚜，人工气候室内以小麦品种铭贤169连续多代饲养，温度22℃±1℃，光照16L:8D。

1.2 挥发物组分

根据小麦不同品种挥发物的鉴定结果（刘勇等，2001），选取19种挥发物组分，各组分购自Aldrich和Sigma公司，纯度≥98%。溶剂正己烷（色谱纯）。各挥发物组分及编码见表1。

表1 化合物及其编码

Table 1 Chemicals and their codes

编码 Codes	化合物 Chemicals	编码 Codes	化合物 Chemicals
0	正己烷（Hexnae）	10	2-莰酮（2-camphor）
1	反-2-己烯醛（E-2-hexenal）	11	反-3-己烯乙酸酯（E-3-hexenyl-acetate）
2	反-2-己烯醇（E-2-hexenol）	12	顺-3-己烯乙酸酯（Z-3-hexenyl-acetate）
3	辛醛（Octanal）	13	顺-3-己烯丁酸酯（Butanoic-Z-3-hexenyl ester）
4	苯甲醛（Benzaldehyde）	14	甲基萘（1-methyl-naphthalene）
5	6-甲基-5-庚烯-2-酮（6-methyl-5-hepten-2-one）	15	十三烷（Tridecane）
6	6-甲基-5-庚烯-2-醇（6-methyl-5-hepten-2-ol）	16	十四烷（Tetradecane）
7	里那醇（Linalol）	17	十五烷（Pentadecane）
8	水杨酸甲酯（Methyl salicylate）	18	十六烷（Hexadecane）
9	2-莰烯（2-camphene）	19	十七烷（Heptadecane）

1.3 触角电位仪

主要由气流分配仪、多通道电子刺激器、微电极放大器、示波器、后置放大器、真空泵、记录仪、参考电极、记录电极、显微操纵仪及屏蔽罩组成。

1.4 测定方法

以石蜡油为溶剂，各挥发物浓度0.5 μg/μL，剂量反应各挥发物浓度另行配制。首先将滤纸嵌入一个具磨口的玻璃刺激管，再在15 mm×7 mm滤纸片正反面各滴加10 μL挥发物溶液，然后把刺激管放入塑料管，密闭后置于冰柜中待用。实验时将刺激管磨口端接气流系统，出口正对触角约2 cm，由真空泵提供气流，流量100 mL/s，每次刺激时间0.3 s，间隔2 min，通洁净空气，由记录仪记录数据。实验时首先将活体蚜虫用细铜丝固定在硅胶底座上，将其1根触角最顶端截断。玻璃Ag-AgCl电极内充满Kaisaling液（pH 6.5），参比电极插在触角柄节与梗节的节间膜内，记录电极套在触角端部。以20 μL石蜡油作为空白对照，每根触角每种化合物连续测定2次，共测定10根触角。

1.5 触角EAG适应性测定

为了确定每两次刺激的最佳间隔时间，我们选用0.5 μg/μL的反-2-己烯醇作为标准刺激物，间隔时间分别为15 s、30 s、60 s和120 s，每处理共刺激8次，试虫为麦长管蚜无翅成蚜，重复10根触角。每种间隔刺激的EAG反应结果用第一次的测定结果标准化。

1.6 触角持续反应时间测定

为了明确蚜虫触角接受刺激的持续反应时间，我们选用0.5 μg/μL的反-2-己烯醇作为刺激物，以麦长管蚜无翅成蚜作为试虫，每隔1 h刺激1次，共刺激6次，重复10根触角。以第一次刺激的EAG反应幅值标准化。比较6 h内EAG反应中幅值的变异。

1.7　剂量反应

根据化合物类别及两种蚜虫的 EAG 反应值，我们主要选择了反-2-己烯醇（HO）、6-甲基-5-庚烯-2-酮（MHO）、苯甲醛（BD）、水杨酸甲酯（MS）和反-3-己烯乙酸酯（HA）做剂量反应。所选挥发物浓度梯度为 0.0005、0.005、0.05、0.5 和 5 μg/μL。

2　结果与分析

2.1　触角 EAG 适应性测定

在重复刺激间隔小于 60 s 时，麦长管蚜触角表现出了对反-2-己烯醇的反应适应性（图 1），其 EAG 反应值在第 2 次重复刺激时就显著下降，间隔 15 s 时，EAG 值下降约 50%，间隔 30 s 时，下降约 30%。随重复刺激间隔时间的延长，触角敏感度的降低越不明显，当间隔 120 s 时，其重复刺激 8 次的 EAG 反应值变化很小。因此，以下实验皆选定 120 s 为 2 次刺激间隔时间。

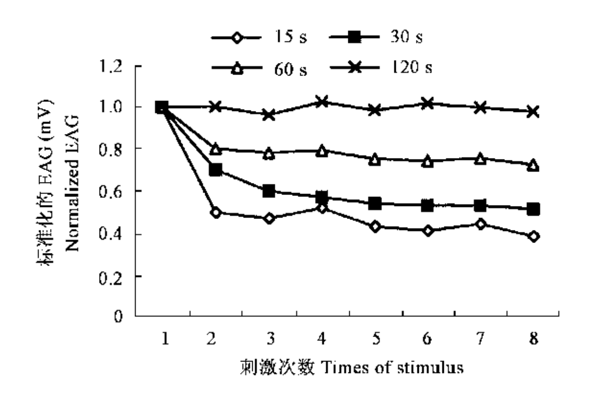


图 1　麦长管蚜无翅成蚜在 4 种时间间隔下的 EAG 反应

Fig.1　Nomalized EAG responses of apterae of *S. avenae* to E-2-hexenol under four different time intervals

化合物编码同表 1，下同 Codes of chemicals are the same as Table 1; the same below.

2.2　触角持续反应时间测定

利用活体蚜虫触角测定 EAG 反应时（图 2），其 EAG 反应值 3 h 内基本不变，6 h 内也只下降了约 40%，所以每头蚜虫可连续测定 2 ~ 3 h，这样就可大大降低标准化合物的刺激次数。

2.3　两种麦蚜对小麦挥发性化合物单组分的 EAG 反应

麦长管蚜的有翅和无翅成蚜对 19 种挥发物的 EAG 反应的绝对值以对水杨酸甲酯的反应最大，有翅蚜为（0.63 ~ 0.03）mV，无翅蚜为（0.59 ~ 0.04）mV；其次是绿叶气味化合物反-2-己烯醛和反-2-己烯醇；再次是 6-甲基-5-庚烯-2-酮和 6-甲基-5-庚烯-2-醇，而对 2-莰烯、2-莰酮及萘和长链烷烃化合物的 EAG 反应与对照石蜡油的 EAG 反应值（0.10 mV ~ 0.02 mV）经方差分析和 Duncan 多重比较，无显著差异（图 3）。

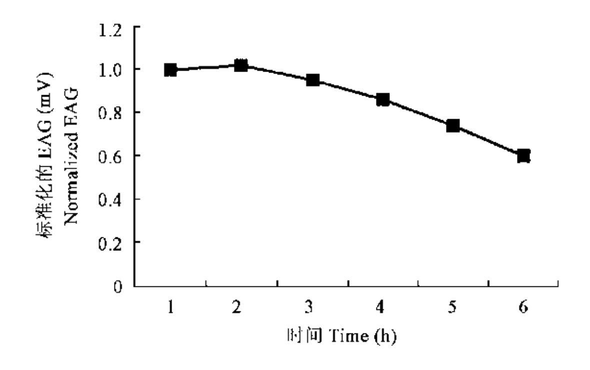


图 2　麦长管蚜无翅成蚜在 6 h 内的 EAG 反应

Fig.2　Normalized EAG responses of apterae of *S. avenae* to E-2-hexenol in 6 h

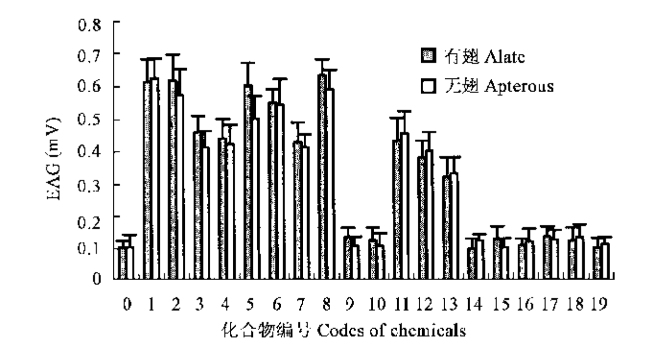


图 3　麦长管蚜有翅和无翅成蚜 EAG 反应值

Fig.3　EAG responses of alatae and apterae of *S. avenae* to volatiles

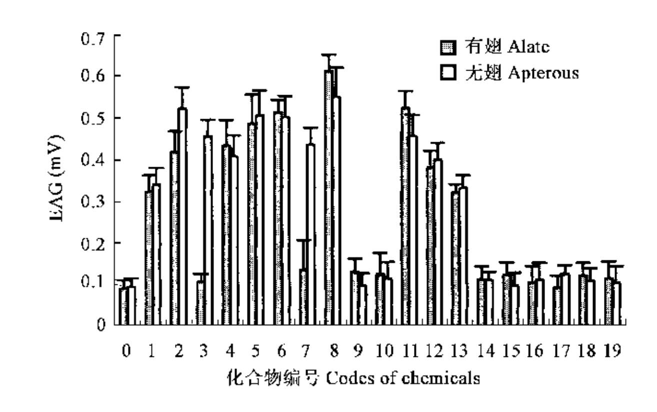


图 4　禾谷缢管蚜有翅和无翅成蚜 EAG 反应值

Fig.4　EAG responses of alatae and apterous virginoparous of *R. padi* to volatiles

禾谷缢管蚜的有翅和无翅成蚜对 19 种气味化合物的 EAG 反应的绝对值也以对水杨酸甲酯的反应最大，有翅蚜为（0.61 ~ 0.02）mV，无翅蚜为（0.55 ~ 0.06）mV；其次是反-3-己烯乙酸酯、6-甲基-5-庚烯-2-酮和 6-甲基-5-庚烯-2-醇，对绿叶气味化合物的 EAG 反应值相对较低；对 2-莰烯、2-莰酮、长链烷烃以及有翅蚜对辛醛和里那醇的 EAG 反应值经方差分析和 Duncan 多重比较与对照石蜡油的 EAG 反应值（0.09 mV ~ 0.02 mV）相比差异不显著（图 4）。

2.4 两种麦蚜不同蚜型对挥发性化合物 EAG 反应的差异

选取麦长管蚜和禾谷缢管蚜的 EAG 反应值与对照比差异显著的 11 种化合物（编码 1 ~ 8，11 ~ 13），分别对此两种蚜虫的有翅及无翅成蚜的嗅觉反应的变异作 t 检验，结果如下：麦长管蚜的有翅和无翅成蚜对 6-甲基-5-庚烯-2-酮（$P < 0.001$）、反-2-己烯醇（$P = 0.015$）和水杨酸甲酯（$P = 0.045$）的 EAG 反应差异显著；禾谷缢管蚜的有翅和无翅成蚜对反-2-己烯醇（$P < 0.001$）、辛醛（$P < 0.001$）、里那醇（$P < 0.001$）、水杨酸甲酯（$P = 0.002$）和反-3-己烯乙酸酯（$P = 0.001$）的 EAG 反应存在显著差异，其中无翅蚜对反-2-己烯醇、辛醛和里那醇的反应较强，有翅蚜对水杨酸甲酯和反-3-己烯乙酸酯的反应较强。

2.5 剂量反应

以浓度 0.5 μg/μL 时蚜虫对反-2-己烯醇的 EAG 反应值为 1，对所有的数据进行标准化，结果见图 5 ~ 8。无论有翅蚜还是无翅蚜，此两种蚜虫对这 5 类化合物的剂量反应曲线基本一致。当其剂量由 0.01 μg 到 0.1 μg 时，其 EAG 反应值变化不大；从 0.1 μg 到 10 μg，EAG 反应值迅速升高；但从 10 μg 开始略有变化，禾谷缢管蚜不同蚜型间存在差异。自 10 μg 开始麦长管蚜对反-3-己烯乙酸酯和 6-甲基-5-庚烯-2-酮的反应呈下降趋势，禾谷缢管蚜无翅蚜对反-3-己烯乙酸酯和水杨酸甲酯的 EAG 反应有下降趋势，而有翅蚜仅对反-3-己烯乙酸酯反应有下降趋势。

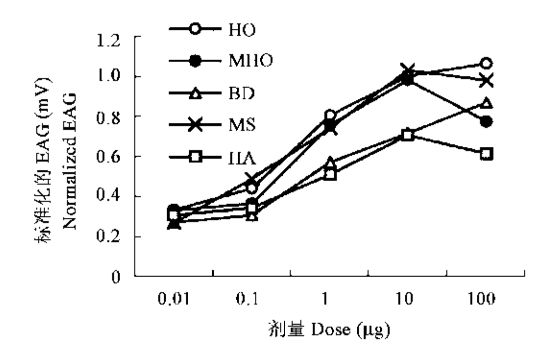


图 5 麦长管蚜有翅蚜的剂量反应曲线

Fig.5 Normalized EAG dose-dependent curve for alatae of *S. avenae*

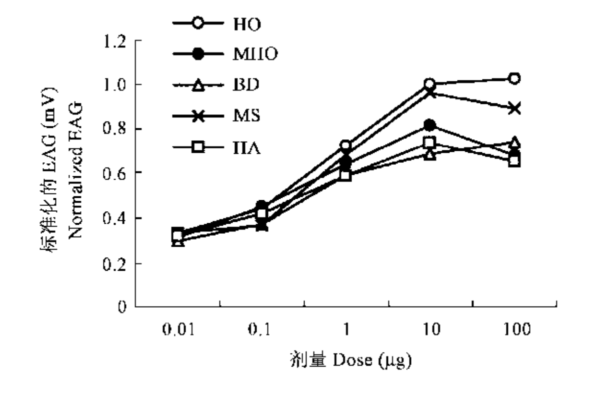


图 6 麦长管蚜无翅蚜的剂量反应曲线

Fig.6 Normalized EAG dose-dependent curve for apterae of *S. avenae*

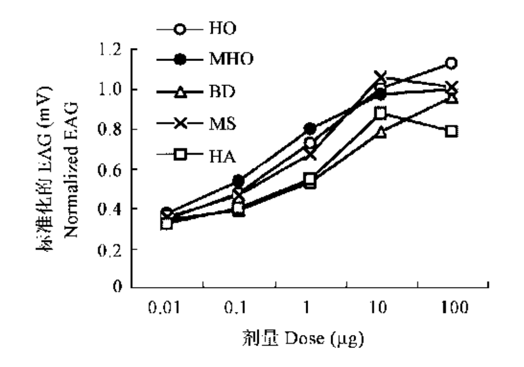


图 7 禾谷缢管蚜无翅蚜的剂量反应曲线

Fig.7 Normalized EAG dose-dependent curve for apterous virginoparous of *R. padi*

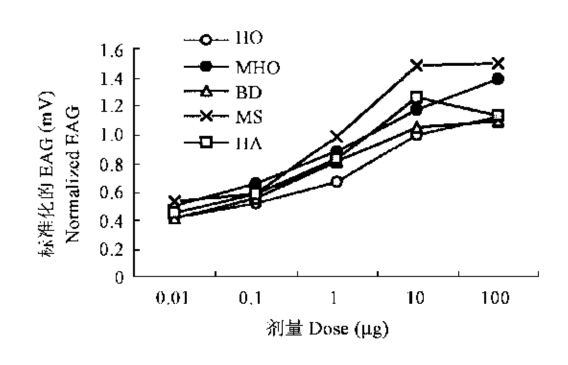


图 8 禾谷缢管蚜有翅蚜的剂量反应曲线

Fig.8 Normalized EAG dose-dependent curve for alate virginoparous of *R. padi*

3 讨论

在进行蚜虫类等微小昆虫的 EAG 测定时，往往存在离体触角持续反应时间短（约 30 min 左右）、两次刺激间 EAG 反应幅值降低过快的情况，而且 EAG 反应值多在 0.3 mV 以下（van Giessen *et al.*，1994；Hardie *et al.*，1994，1995）。本实验在传统的 EAG 测定方法的基础上，参照 Park 和 Hardie（1998）方法，并加以改进，同以往的 EAG 测定方法相比，具有明显的优越性。首先本实验的活体蚜虫触角可持续 2～3 h，是以往实验的 4～5 倍；其次，EAG 反应值较大，多在 0.4 mV 左右，信噪比提高了约 10 倍。而且 EAG 的反应强度随时间推移，在两次时间间隔 120 s 时，没有明显降低，这大大减轻了实验工作量，提高了重复测定的准确性和稳定性。

从麦长管蚜和禾谷缢管蚜的嗅觉反应谱来看，两种蚜虫及其不同蚜型间，其嗅觉反应谱不同。麦长管蚜的有翅和无翅蚜型对绿叶气味、脂肪醛、芳香醛、芳香醇和醋酸酯类都有较高的 EAG 反应，对麦蚜取食诱导的挥发性互益素 6-甲基-5-庚烯-2-酮、6-甲基-5-庚烯-2-醇和水杨酸甲酯（刘勇等，2001）也具有较高的 EAG 反应值。禾谷缢管蚜对一些特定的气味物质的嗅觉反应较强，如水杨酸甲酯、反-3-己烯乙酸酯、6-甲基-5-庚烯-2-酮和 6-甲基-5-庚烯-2-醇等，而对绿叶气味反-2-己烯醛的 EAG 反应值相对较低。

两种蚜虫对长链烷烃（C_{13}～C_{17}）、2-莰烯和 2-莰酮的 EAG 反应值与对照比无显著差异，说明以上几种化合物不能作为麦蚜寄主搜寻的化学线索。两种蚜虫的有翅和无翅蚜对同一化合物的 EAG 反应值存在一定差异，特别是禾谷缢管蚜，这可能与有翅蚜迁移及转主为害的特性有关，对特定植物气味产生反应，利于其尽快准确的发现寄主。

在两种蚜虫有翅和无翅成蚜对挥发物的剂量反应中，其嗅觉反应强度并不是随挥发物浓度的提高而逐渐升高，当挥发物浓度在 0.5 μg/μL 以下时，其反应呈上升趋势；当浓度超过 0.5 μg/μL 时，其嗅觉反应发生分化，这可能与挥发物的种类及结构有关，这还有待进一步研究。

致谢　本研究得到了北京大学生命科学院吴才宏教授、马洪涛博士的指导和帮助，特此致谢！

参　考　文　献（References）

Bromley A K，Anderson M，1982. An electrophysiological study of olfaction in the aphid *Nasonovia ribis-nigri*. *Entomol. Exp. Appl.*，32：101－110.

Hardie J，Visser J H，Piron P G M，1994. Perception of volatiles associated with sex and food by different adult forms of the black bean aphid *Aphis fabae*. *Physiol. Entomol.*，19：278－284.

Hardie J，Visser J H，Piron P G M，1995. Peripheral odour perception by adult aphid forms with the same genotype but different host plant preferences. *J. Insect Physiol.*，41：91－97.

Liu Y，Hu C，Ni H J，Sun J R，2001. Effects of volatiles from different trophic level on foraging behavior of *Aphidius avenae*. *Chinese Journal of Applied Ecology*，12（4）：581－584.［刘勇，胡萃，倪汉祥，孙京瑞，2001. 不同营养层次挥发物对燕麦蚜茧蜂寄主搜寻行为的影响. 应用生态学报，12（4）：581－584］

Park K C，Hardie J，1998. An improved aphid electroantennogram. *J. Insect Physiol.*，44：919－928.

Pickett J A，Wadhams L J，Woodcock C M，1992. The chemical ecology of aphids. *Annu. Rev. Entomol.*，37：67－90.

Schneider D，1957. Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo- und Mechanorezeptoren der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L. *Zeitschift fur Vergleichende Physiologie*，40：8－41.

van Giessen W A，Fescemyer H W，Burrows P M，1994. Quantification of electroantennogram responses of the primary rhinaria of *Acythosiphon pisum* to C_4－C_8 primary alcohols and aldehydes. *J. Chem. Ecol.*，20：909－927.

Visser J H，Piron P G M，Hardie J，1996. The aphids peripheral perception of plant volatiles. *Entomol. Exp. Appl.*，80：35－38.

Visser J H，Piron P G M，1995. Olfactory antennal responses to plant volatiles in apterous virginoparae of the vetch aphid *Megoura viciae*. *Entomol. Exp. Appl.*，77：34－46.

Visser J H，Yan F S，1995. Electroantennogram responses of the grain aphids *Sitobion avenae*（F.）and *Metopolophium dirhodum*（Walk.）（Homoptera，Aphididae）to plant odour components. *J. Appl. Entomol.*，119（8）：539－542.

Yan F S，Visser J H，1982. Electroantennogram responses of the cereal aphid *Sitobion avenae* to plant volatile components. In：Visser J H，Minks A K eds. Proceeding of the 5th International Symposium on Insect-Plant Relationships. Pudoc，Wageningen. 387－388.